

66-

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

MENU

SEARCH

INDEX

1/1



JAPANESE PATENT OFFICE

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

AF

(11)Publication number: 07138284

(43)Date of publication of application: 30.05.1995

(51)Int.Cl.

C07K 5/023
C07D255/02
// A61K 38/22

(21)Application number: 05338728

(22)Date of filing: 19.11.1993

(71)Applicant:

(72)Inventor:

CHUGAI PHARMACEUT CO LTD

MURAYAMA EIGOROU

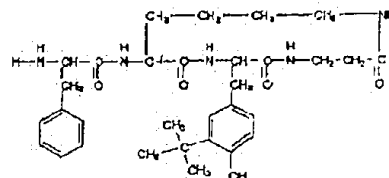
HARAMURA MASAYUKI

(54) MOTILIN ANTAGONIST

(57)Abstract:

PURPOSE: To obtain a new compound or its salt which comprises phenylalanine, lysine, tyrosine derivative and β -alanine and has a possibility of a therapeutic agent for hypersensitive intestine syndrome as an antagonist of motilin, one of digestive tract hormones.

CONSTITUTION: A novel compound of the formula, a linear peptide of 22 amino acids, as an antagonist of motilin, one of digestive tract hormones, which is extracted from swine duodenum. The peptide is obtained by linking amino-protected β -alanine, t-butyltyrosine, lysine and phenylalanine to the carrier in order according to the solid phase method of peptide synthesis to form the protected peptide chain, then treated with trifluoroacetic acid to effect deprotection and elimination of the peptide from the carrier. Finally, the peptide is cyclized intramolecularly in a solvent and purified through the HPL chromatography.



LEGAL STATUS

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平7-138284

(43) 公開日 平成7年(1995)5月30日

(51) Int.Cl. ⁴	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 7 K 5/023		8318-4H		
C 0 7 D 255/02				
// A 6 1 K 38/22	A C J		A 6 1 K 37/ 24	A C J

審査請求 未請求 請求項の数1 書面 (全 4 頁)

(21) 出願番号 特願平5-338728

(22) 出願日 平成5年(1993)11月19日

(71) 出願人 000003311

中外製薬株式会社

東京都北区浮間5丁目5番1号

(72) 発明者 村山 榮五郎

東京都中央区京橋2丁目1番9号 中外製薬株式会社内

(72) 発明者 原村 昌幸

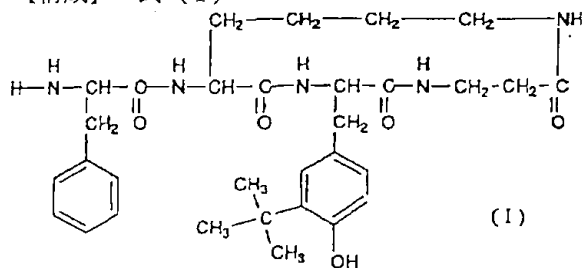
静岡県御殿場市駒門1丁目135番地 中外製薬株式会社内

(54) 【発明の名称】 モチリンアンタゴニスト

(57) 【要約】

【目的】 モチリンレセプターアンタゴニストを提供すること。

【構成】 式 (I)

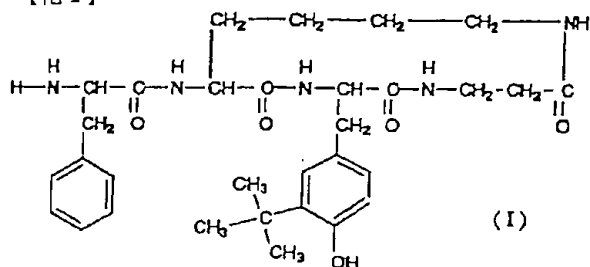


で示される化合物またはその塩。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 式(1)

【化1】



(I)

で示される化合物またはその塩。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明はモチリンアンタゴニストに関する。

【0002】

【従来の技術】消化管ホルモンの一つであるモチリンは、ブタ十二指腸より抽出された22個の直鎖のペプチドであり(Brown et al., Can. J. Physiol. Pharmacol. 49, 399-405 1971)、ヒトを含む哺乳類動物の消化管運動を調節していることはよく知られている。外因性に与えたモチリンは、ヒトおよびイヌに空腹期伝播性収縮(Interdigestive Migrating Contractions, IMC)と同様な収縮を引き起こし、胃排出を促進することが報告されている(Itohet al., Scand. J. Gastroenterol. 11, 93-110 1976; Peeters et al., Gastroenterology 102, 97-101 1992)。そのため、モチリンアゴニストであるエリスロマイシン誘導体が消化管運動機能促進剤として開発が進められている(Inatomi et al., J. Pharmacol. Exp. Ther. 251, 707-712 1989; Satoh et al., J. Pharmacol. Exp. Ther. 254, 940-944 1990)。

【0003】またモチリンレセプターは、十二指腸に主に存在することが知られていたが、最近、下部消化管の大腸にも存在することが認められ(William et al., Am. J. Physiol. 262, G50-G55 1992)、上部消化管運動ばかりでなく、下部消化管運動調節にもモチリンが関与する可能性が示されている。さらに、下痢症状を示す過敏性腸症候群患者やストレス下の過敏性腸症候群患者が高モチリン血症を示すことが報告されており(Preston et al., Gut 26, 1059-1064 1985; Fukudo et al.,

Tohoku J. Exp. Med. 151, 373-385 1987)、本病態に血中モチリンの上昇が関与する可能性が示唆されている。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】しかしながら、選択的なモチリンレセプターアンタゴニストはまだ発見されておらず、そのことが、モチリンの消化管運動に対する作用の研究や、本分野における医薬品の開発研究において大きな妨げになっている。

10 【0005】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、以上のような観点からモチリンアンタゴニストについて鋭意研究を重ねた結果、本発明の化合物がモチリンアンタゴニストの作用を有することを見だし、本発明を完成した。本発明化合物であるモチリンレセプターアンタゴニストは、モチリンおよびモチリンアゴニストの開発研究において、薬理的なツールとして使えるばかりでなく、過敏性腸症候群など消化管運動機能に関連した疾患に対する医薬品として開発できる可能性もある。

20 【0006】本発明化合物は新規なペプチドであり、通常のペプチド合成法、例えば固相合成法や液相合成法などで合成できる。また、アミノ酸上の置換基はペプチド合成の前後の何れにおいても導入することができる。チロシン残基への置換基の導入は、通常の有機化学的方法例えばプロトン酸やルイス酸などの酸触媒の存在下でのフリーデルクラフツ反応などにより行うことができる。

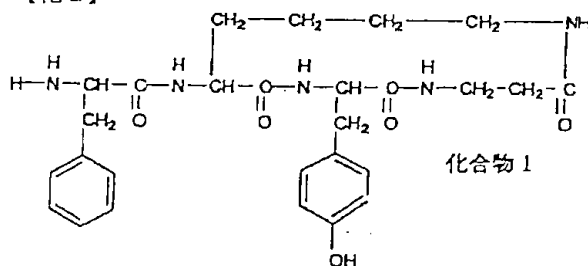
【0007】

【実施例】以下に実施例により本発明をさらに詳細に説明する。

30 【0008】

【参考例1】化合物1の合成

【化2】



化合物1

40 PEPSYN KA樹脂(ミリジェン社製、0.2 mmol/g) 3.5 gをDMF中にて膨潤させた後、Fmoc-βAla-OH 1.74 g、ジイソプロピルカルボジイミド353 mg、4-ジメチルアミノピリジン86 mgを加え、室温にて一晩放置し、反応させる。反応終了後、DMF、メタノール、酢酸で順次洗浄した後、メタノール、DMFにて再度順次洗浄する。得られたFmoc-βAla-PEPSYN KA樹脂を原料として、ペプチド合成装置(LKB Biolynx 4175)を用いた固相合成法によってペプチド合成を行

う。常法にしたがって、Fmoc-Tyr(tBu)-PFPエステル、Fmoc-Lys(Boc)-DHB Tエステルを順次反応、脱保護させた後、Fmoc-Phe-PFPエステルのカップリング反応終了後、DMF、メタノールにて順次洗浄し、乾燥して、保護ペプチド樹脂3.9gを得る。得られた保護ペプチド樹脂3.9gに、TFA4.7ml、アニソール2.5ml、1,2-エタンジチオール0.5mlを加え、室温にて2時間反応させる。濾過の後、濾液を減圧下にて濃縮し、氷冷した無水エーテル中にあげ固体化する。得られた固体を遠心分離により収集し、無水エーテルにより洗浄した後、乾燥させる。DMF200ml及びピリジン200mlを加え、Bop試薬1.55gを加えて、24時間反応させる。反応終了後減圧にて濃縮し、水を加えて固体とし、一晚攪拌後、固体を濾集し乾燥させる。20%ピペリジン-DMF溶液を加え20分間室温で攪拌した後、DMFを加え減圧にて濃縮する。得られた濃縮液をセップバックC₁₈（ウォーターズ社製）で処理した後、減圧下で濃縮し、高速液体クロマトグラフィー〔カラム；YMC ODS、移動相；アセトニトリル（0.1%TFA）／蒸留水（0.1%TFA）10%→30%グラジエント30min〕にて、分離精製する。得られたピーク画分を凍結乾燥すると、化合物1 56.9mgを得る。

【0009】アミノ酸分析

測定値（理論値） βAla；1.23（1） Tyr；1.09（1）

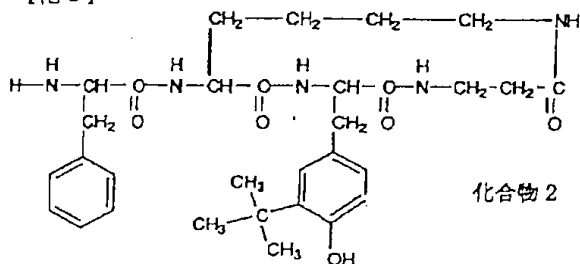
Phe；1.00（1） Lys；0.63（1）

Fab-Mass m/z 510 (M+H)⁺

【0010】

【実施例1】化合物2の合成

【化3】



参考例1で得られた化合物1 170mgに、TFA10ml、トリメチルシリルトリフラート0.1mlを加え、氷-食塩にて冷却しながらイソブテンガスを導入する。氷冷した無水エーテル中にあげ固体化し、得られた固体を遠心分離により収集し、無水エーテルにより洗浄する。DMFを加え溶解し、セップバックC₁₈（ウォーターズ社製）で処理した後、高速液体クロマトグラフィー〔カラム；YMC ODS、移動相；アセトニトリル（0.1%TFA）／蒸留水（0.1%TFA）20%→60%グラジエント40min〕にて、分離精製

する。得られたピーク画分を凍結乾燥すると、化合物2 85.5mgを得る。

【0011】NMR（90%H₂O-10%D₂O）
 δ；1.01~1.11（m, 2H） 1.29（s, 9H） 1.38~1.47（m, 2H） 1.49~1.63（m, 2H） 2.07~2.31（m, 2H） 2.62~2.88（m, 2H） 2.80~2.90（m, 2H）
 3.97~4.07（brs, 1H） 4.27~4.33（m, 1H） 4.40~4.47（m, 1H） 6.64（d, J=8Hz, 1H） 6.80（d, J=8Hz, 1H） 6.95（s, 1H） 7.14~7.20（m, 2H） 7.21~7.27（m, 2H） 7.35~7.40（m, 1H） 7.60~7.65（dd, J=8Hz, 8Hz, 1H） 8.03（brs, 3H） 8.39（d, J=8Hz, 1H） 8.57（d, J=8Hz, 1H）

Fab-Mass m/z 566 (M+H)⁺

【0012】

【試験例1】モチリン受容体結合実験

モチリン受容体結合実験は次の方法で行った〔Vantappen et al., Regul. Peptides, 15, 143（1986）〕。屠殺したウサギより十二指腸を摘出し、粘膜を剥離後、50mM Tris溶液中でhomogenizeして蛋白液とした。蛋白液を¹²⁵Iモチリン25pMと共にインキュベートした後に、蛋白に結合した放射活性を測定した。インキュベート液中に、何も添加しなかった際の放射活性と大過剰のモチリン（10⁻⁷M）を添加した際の放射活性の差を特異的結合とした。薬物の活性は特異的結合を50%に減らす濃度（IC₅₀, M）で表した。その結果、本発明化合物は用量依存的に特異的結合を減少させ、IC₅₀は、1.0±0.3×10⁻⁸M（N=4）と計算された。

【0013】

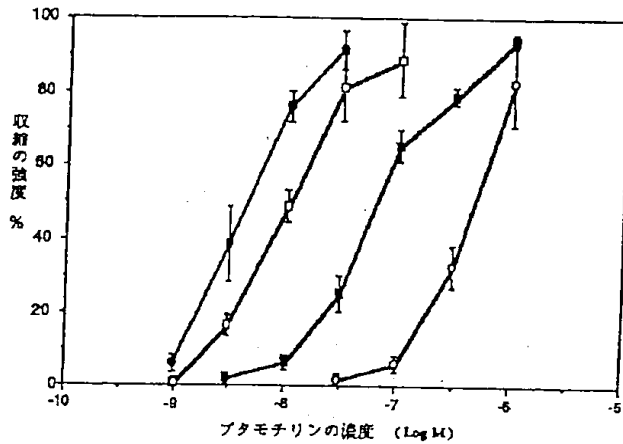
【試験例2】ウサギ摘出十二指腸縦層筋標本の収縮に対する作用

モチリンによるウサギ摘出十二指腸縦層筋標本の収縮に対する本発明化合物の作用を調べた。屠殺したウサギより摘出した十二指腸標本（5×15mm）を、28℃に加温したkrebs溶液を満たした恒温槽（organ bath 10ml）中に縦走筋方向に懸垂した。混合ガス（95% O₂, 5% CO₂）をKrebs溶液に連続的に通気し、十二指腸標本の収縮は、isotonic transducer（ME-3407, ME Commercial, Tokyo, Japan）を介して等張性（負荷 1g）に記録した。収縮の程度はアセチルコリン10⁻⁴Mの濃度による収縮を100%として、それに対する割合で示した。結果を図1に示す。〔図1〕恒温槽内に滴下されたモチリンは、十二指腸標

本を濃度依存的に収縮させた。本発明化合物の恒温槽内への前処置は、モチリンの濃度依存性収縮曲線を右に平行移動させた。この結果のSchildプロットを図2に示した。

【図2】これより直線の傾きは1.07、pA2値は7.17と計算された。また、本発明化合物はアセチルコリンおよびKClの濃度依存性収縮曲線には影響を与

【図1】



●—● コントロール
□—□ 化合物2 $10^{-7}M$
■—■ 化合物2 $10^{-6}M$
○—○ 化合物2 $10^{-5}M$

えなかった。この結果より、本発明化合物は、モチリンの競合的な拮抗剤と考えられた。

【図面の簡単な説明】

【図1】 本発明化合物のウサギ摘出十二指腸縦層筋標本の収縮に対する作用を示す。

【図2】 本発明化合物のSchildプロットを示す。

【図2】

